

J. Clin. Chem. Clin. Biochem.
Vol. 17, 1979, pp. 123–128

Organkonservierung durch Schweres Wasser (D_2O): Morphologische und biochemische Untersuchungen an Herz und Leber

Von M. Wenzel,

Pharmazeutisches Institut,

B. Hölscher,

Chirurgisches Forschungslaboratorium, Klinikum Steglitz,

T. Günther,

Institut für Molekularbiologie und Biochemie und

H.-J. Merker,

Institut für Anatomie der Freien Universität Berlin

(Eingegangen am 17. Februar/1. September 1978)

Zusammenfassung: Im Kaninchenherzen und in der Rattenleber wurde in situ das Gewebewasser partiell gegen D_2O ausgetauscht. In Rattenleber wird der ischämische ATP-Abfall nach D_2O -Perfusion verzögert. Der Schutzeffekt des D_2O erreicht bereits bei einem D_2O -Anteil von 0,20 (im Gewebewasser) seinen maximalen Wert. Wesentlich geringere ischämische Schäden der verschiedenen Zellorganellen, besonders der Mitochondrien, der mit D_2O -vorbehandelten Organe wurden gefunden. Die Schutzwirkung Magnesium-haltiger cardioplegischer Lösungen auf das Herz wurde durch D_2O noch verstärkt.

Organ preservation by heavy water (D_2O)

Morphological and biochemical studies on heart and liver

Summary: The tissue H_2O of rabbit heart and rat liver was partially exchanged in situ with D_2O . In rat liver, the loss of ATP, resulting from normothermic ischemia, was decreased after perfusion with D_2O . The maximal protective effect was found when the proportion of D_2O in the water of the liver tissue was 0.20. In both organs the protective effect of D_2O could be correlated with a marked decrease in severe ischemic damage of cellular organelles, in particular mitochondria. D_2O also increased the protective action of Mg-ions in the heart.

Einleitung

Der Erfolg von Transplantationen oder von Operationen am offenen Herzen hängt u.a. davon ab, daß während der ischämischen Phase möglichst geringe biochemische und morphologische Veränderungen des Organs auftreten.

Bei Herzoperationen wird dies durch Ruhigstellung des Organs mit Hilfe cardioplegischer Lösungen erreicht.

Hölscher hat als erster gezeigt (1,2), daß nach einem mit Magnesium-chlorid induzierten, 30 min dauernden Stillstand das Herz nach der Reperfusion seinen Sinusrhythmus wieder aufnahm und morphologische Veränderungen nicht nachzuweisen waren. Diese Ergebnisse wurden später mit Magnesiumsulfat

(3) und Magnesiumaspartat, das in der cardioplegischen Lösung "Cardioplegin" (4) enthalten ist, experimentell (4, 5, 6) und klinisch (7, 8, 9) bestätigt. Die normotherme Ischämie-Toleranz läßt sich dabei bis zu einer Stunde ausdehnen. Eine weitere Verlängerung der Ischämie-Toleranz gelang bisher nur durch Hypothermie (6, 10).

An der Leber dagegen konnte durch ähnlich zusammengesetzte Mg-haltige Lösungen das Auftreten normothermer Ischämie-Schädigungen, gemessen anhand des Gehaltes von Adeninnucleotiden, Glykogen und Lactat sowie der Morphologie, nicht verzögert werden (11). Die Ischämie-Toleranz ließ sich hierbei nur durch Hypothermie verbessern (11).

Eine andere Möglichkeit zur Zell-Stabilisierung ist bei Human-Erythrocyten (12, 13) und bei Tumorzellen (14) nachgewiesen worden. Bei diesen Modellen schützte Schweres Wasser (D_2O) die Zellen gegen osmotische und thermische Schäden. Dieser Schutz-Effekt des Schweren Wassers läßt sich auch bei isolierten biologischen Makromolekülen wie Enzymen nachweisen (15).

Die Stabilisierung biologischer Systeme durch D_2O beruht letztlich auf dem Isotopie-Effekt des Deuteriums und ist damit unabhängig von der Wirkung der Hypothermie bzw. von Mg^{2+} -Ionen. Durch die Kombination beider Möglichkeiten zur Konservierung ischämie-empfindlicher Organe sollten sich daher bessere Ergebnisse erreichen lassen.

Wir haben deshalb einige normotherme Ischämie-Veränderungen an Leber und Herz nach teilweisem Austausch von H_2O gegen D_2O untersucht. Als Meßparameter für die biochemischen Effekte des D_2O wählten wir wegen seiner zentralen Bedeutung für alle energie-abhängigen Reaktionen der Zelle den ATP-Gehalt.

Zur Ergänzung der biochemischen Befunde wurden die morphologischen Veränderungen bei Leber und Herz durch Ischämie nach D_2O -Infusion untersucht.

Material und Methoden

Lösungen

Es wurden Ringer-Lösungen in H_2O bzw. D_2O mit folgender Zusammensetzung hergestellt (Angaben in mmol/l):

NaCl	143
KCl	5,0

$CaCl_2$	2,5
$MgCl_2$	1,0

Außerdem wurden jeweils 20 ml einer "Cardioplegin"-Lösung mit H_2O bzw. D_2O hergestellt, die folgende Stoffe (Angaben in mmol/l) enthielt:

Procain-Hydrochlorid	11
Mg-L-Aspartat	80
Sorbit	247

Die D_2O -haltigen Lösungen wurden mit frisch destilliertem Schwerem Wasser (Sharp und Dohme GmbH, 8000 München, Deutschland) mit einem D_2O -Anteil von 0,997 hergestellt. Gegebenenfalls wurde das D_2O mit H_2O auf die angegebene Konzentration verdünnt.

Tierversuche

Versuche mit Rattenleber

Für die Versuche wurden 200 g schwere männliche Wistar-Ratten, die mit Altromin und Leitungswasser ernährt waren, verwendet. Jede Versuchsgruppe bestand aus 4 Tieren. Die Operationstechnik wurde bereits ausführlich beschrieben (11).

Die Lebern wurden unter einem hydrostatischen Druck von 13 cm H_2O mit 38°C warmen Lösungen durchströmt, die 143 mmol/l NaCl, 5 mmol/l KCl, 2,5 mmol/l $CaCl_2$ und 1,0 mmol/l $MgCl_2$ enthielten. Als Lösungsmittel diente

1. H_2O
2. H_2O mit einem D_2O -Anteil von 0,10
3. H_2O mit einem D_2O -Anteil von 0,25
4. H_2O mit einem D_2O -Anteil von 0,50

Bei den Versuchen zur ATP-Bestimmung wurde zweimal für je 1 Minute mit 10 ml Lösung durchströmt und zwischendurch zum besseren Austausch von H_2O gegen D_2O 2 Minuten gewartet. Anschließend wurden die Lebern unter Ischämie bei 37°C in situ aufbewahrt. Nach den angegebenen Zeiten wurden Leberlappen entnommen und sofort in flüssigem N_2 eingefroren. Als Kontrolle dienten Lebern, die (ohne Ischämie) sofort entnommen und eingefroren wurden.

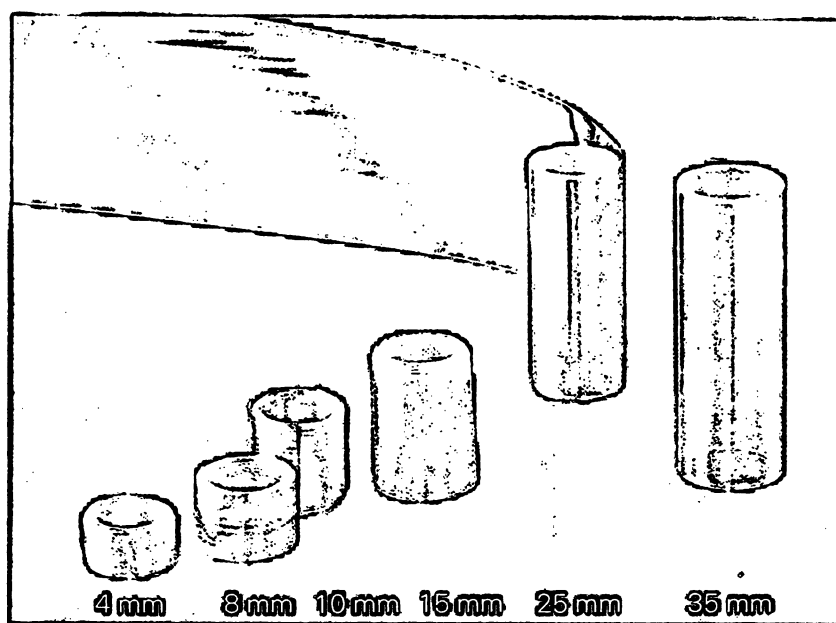
Die Versuchsbedingungen für die analogen Versuche zur Gewinnung von Gewebeproben für die Elektronenmikroskopie sind in Tabelle 1 zusammengefaßt. Hierbei wurden alle D_2O -haltigen Lösungen mit reinem D_2O angesetzt.

Tab. 1. Organ-Perfusion, Probenentnahme und D_2O -Anteil in den Organen

		Perfusion			Entnahme von Gewebe-Proben für:		D ₂ O-Anteil im Organ	
Tier Nr.		Organgewicht	Volumen	Zeit	Elektronen-Mikroskopie	D ₂ O-Bestimmung		
		[g]	[ml]	[min]	[min]	[min]	[%]	
Kaninchen								
Versuche mit <i>Ringer</i> -Lösung								
1	Leber	7,5	7,5 (H ₂ O)	0-1	}	—	—	
2		7,5	7,5 (D ₂ O)	0-1		1, 4, 20, 40	40	0,097
3		7,5	10 (D ₂ O)	0-1			45	0,135
4	Herz	8,8	10 (H ₂ O)	0-1	}	—	—	
			10 (H ₂ O)	10-11		20, 40, 90, 120		
			10 (H ₂ O)	30-31				
5		7,0	wie bei Nr. 4 mit D ₂ O			120	0,631	
Kaninchen								
Versuche mit Cardioplegin								
6	Herz	7,5	10 (H ₂ O)	0-1	}	—	—	
7		7,6	10 (D ₂ O)	0-1		1, 4, 120, 180	180	0,080
8		7,5	10 (D ₂ O)	0-1			180	0,110
Ratten								
Versuche mit <i>Ringer</i> -Lösung								
9	Herz	11,3	30 (H ₂ O)	0-3	}	—	—	
			20 (H ₂ O)	5-7				
10		11,2	15,6 (D ₂ O)	0-3		30, 90, 180		
			10,4 (D ₂ O)	5-7		180	0,495	

CUPROPHAN[®]

Dialyzing Membrane



for Laboratory Modules:
Narrow Tubings

Cuprophan tubings — dry for your processing convenience — are available also in lay flat widths of 4, 8, 10, 15, 25, and 35 mm. This semipermeable membrane may be used for separation processes of small samplings in laboratories.

Ask for samples and quotation.

Enka AG
Product Group
Dialyzing Membrane
Plant Wuppertal-Barmen
P.O.B. 200 916
D 5600 Wuppertal 2
W. Germany

 Akzo group member

Wußten Sie schon...

daß bei
ORTHO[®] DIAGNOSTICS ein

umfassendes Programm an

Reagenzien für die Qualitätskontrolle
im medizinischen Laboratorium für Sie bereitsteht?

„Der Patient in der Ampulle“

Normal und Abnormal Control Serum
für Präzisions- und Richtigkeitskontrolle
Kinetic Test Control Set I, II, III
Automated Reference Serum
Control Urine I und II
RIA Control I bis VI
Elevated Lipids Control Serum
Elevated Bilirubin Control Serum
CK Isoenzyme Control Serum
Toxicology Control Urine Proficiency
Toxicology Control Serum
Anticonvulsant Control Serum

**Problembezogene Human-
seren für die wirklichkeitsnahe
Qualitätskontrolle in jedem
Bereich der medizinischen
Labordiagnostik.**



ORTHO DIAGNOSTICS GMBH
Hansahaus · Postfach 104345 · 69 Heidelberg

Versuche mit Kaninchenherzen

Für die Versuche am Herzen wurden 2–2,5 kg schwere Kaninchen verwendet. Die Tiere wurden mit 30 mg/kg Pentothal i.v. narkotisiert und unter Überdruckbeatmung mit O_2/CO_2 -Gemisch (Volumina, 950 ml + 50 ml) durch eine Trachealkanüle thorakotomiert. Die Hohlvenen und die Aorta wurden angeschlungen. Nach Occlusion beider Hohlvenen und Entlastung des rechten Herzens durch einen Einschnitt in das rechte Herz wurden die temperierten Lösungen durch die abgeklemmte proximale Aorta ascendens in die Coronarien injiziert. Um einen höheren D_2O -Gehalt zu erreichen, wurden in einer weiteren Serie die Lösungen mehrmals in zeitlichen Abständen injiziert. Mengen und Zeitangaben in Tabelle 1.

Die II. Ableitung des EKG wurde fortlaufend registriert. Während des Versuches wurde die Temperatur im Herzen, wie früher angegeben (1, 2), gemessen. Die Zeiten für die Entnahme von Gewebeproben aus dem linken Papillarmuskel zur Elektronenmikroskopie und für die Bestimmungen des D_2O -Gehaltes sind in Tabelle 1 zusammengefaßt.

Bestimmung des D_2O -Gehaltes in den Organen

Aus eingefrorenen Organproben (etwa 1 g) wurde im Hochvakuum das Gewebe-Wasser in eine Vorlage sublimiert. Da D_2O einen etwas geringeren Dampfdruck hat als H_2O , muß das gesamte Gewebe-Wasser sublimiert werden; anderenfalls erhält man im Sublimat einen zu geringen D_2O -Anteil.

In den Wasserproben wurde das Verhältnis H_2O/D_2O durch Kernresonanz-Spektroskopie bestimmt (NMR-Spektrometer Varian MAT T 60).

Aus dem Integral des Kernresonanz-Signals von 1H konnte anhand einer Standardkurve der 1H -Anteil berechnet werden.

Die Standardkurve erhält man durch Ausmessen der Integrale von Wasserproben mit definiertem D_2O -Anteil.

ATP-Bestimmung

Zur Bestimmung des ATP-Gehaltes wurden 1 g Leber mit 5 ml 0,6 mol/l $HClO_4$ aufgeschlossen (16). Im neutralisierten $HClO_4$ -Extrakt wurde ATP im optischen Test mit 3-Phosphoglyceratkinase gemäß Boehringer ATP-Testkombination (Nr. 123897) bestimmt (16).

Elektronenmikroskopie

Die Herz- und Leberproben wurden mit 30 g/l Paraformaldehyd und 30 g/l Glutaraldehyd in 0,2 mol/l Cacodylat-Puffer pH 7,4 fixiert, in 10 g/l OsO_4 nachfixiert, anschließend in Micropal (Ferak, Berlin) eingebettet und mit LKB- oder Reichert-Microtomen geschnitten. Kontrastierung mit Uranylacetat/Bleicitrat, Aufnahmen mit dem Siemens Elmiskope 101. Es wurden von jeder Gewebeprobe mehrere Schnitte hergestellt und von jedem Schnitt mehrere Aufnahmen zur Beurteilung herangezogen.

Ergebnisse

D_2O -Gehalt der Leber nach Perfusion mit D_2O -haltigen Lösungen

Der D_2O -Gehalt im Gewebewasser der Leber steigt proportional zur zugeführten D_2O -Menge, wie Abbildung 1 zeigt. Unter den hier gewählten Versuchsbedingungen waren, um einen D_2O -Anteil von 0,20 im Gewebewasser zu erreichen, 0,8 l reines D_2O pro kg Leber nötig.

Einfluß des D_2O auf den ATP-Gehalt der Leber nach Ischämie

Bei normothermer Ischämie nimmt die ATP-Konzentration, wie auch von anderen (17) gefunden, innerhalb von 30 min stark ab. Anschließend sinkt die ATP-Kon-

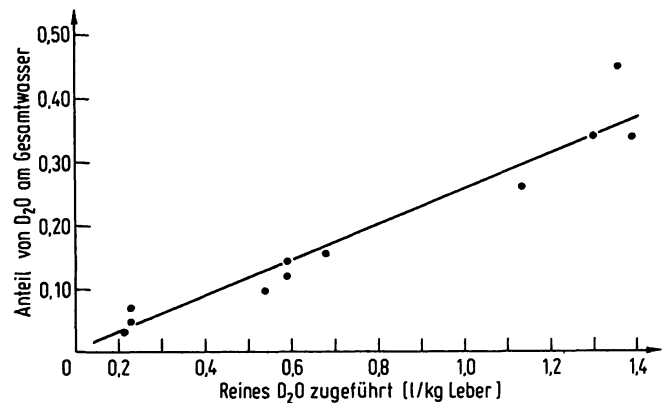


Abb. 1. D_2O -Gehalt des Gewebewassers von Leberproben nach Zufuhr verschiedener D_2O -Mengen.
Ordinate: Im Gewebewasser gefundener Anteil an D_2O
Abzisse: Je kg Leber zugeführte D_2O -Menge (berechnet auf reines D_2O).
 $y = 28,1 \bar{x} - 2,23$; $r = 0,971$

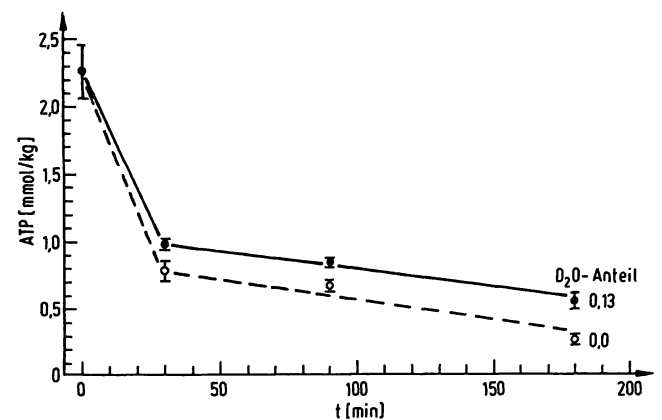


Abb. 2. Abfall der ATP-Konzentration der Leber durch Ischämie in H_2O bzw. D_2O .
obere Kurve: Durchströmung mit einer Ringer-Lösung, die einen D_2O -Anteil von 0,25 hatte; im Gewebe gefundener mittlerer D_2O -Anteil 0,13.
untere Kurve: Kontrolle mit H_2O . $n = 4$, Mittelwert $\pm \sigma$.

zentration mit langsamerer, annähernd konstanter Geschwindigkeit weiter ab (Abb. 2). Nach teilweisem Austausch von H_2O durch D_2O erfolgt die Abnahme der ATP-Konzentration mit geringerer Geschwindigkeit.

Dieser Schutzeffekt hängt vom D_2O -Gehalt ab. Trägt man die Einzelwerte der ATP-Konzentrationen der verschiedenen Leberproben in Abhängigkeit von dazugehörendem D_2O -Gehalt auf, so erhält man eine Sättigungskurve mit einem Sättigungswert bei einem D_2O -Anteil von etwa 0,20 (Abb. 3). Die gleiche Abhängigkeit des Schutzeffektes von der D_2O -Konzentration wurde auch bei Versuchen zur Stabilisierung von Erythrocyten (12) gefunden. Daraus ergibt sich, daß zur Organkonservierung ein Anteil von etwa 0,20 des Gewebewassers durch D_2O ersetzt werden müssen. Allerdings kann der normotherme ischämische ATP-Verlust durch D_2O nur teilweise aufgehalten werden.

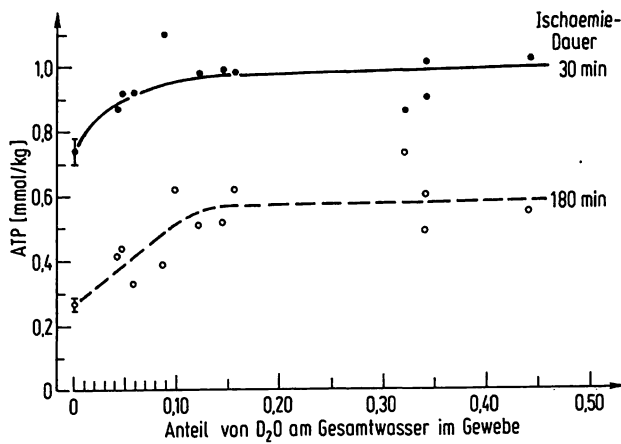


Abb. 3. Einfluß des D_2O -Anteils auf den ATP-Gehalt der Leber nach Ischämie.
Aufgetragen wurde der ATP-Gehalt in Abhängigkeit vom D_2O -Anteil jeder Einzelprobe.
obere Kurve: nach 30 min Ischämie
untere Kurve: nach 180 min Ischämie
Werte bei D_2O Anteil 0: $n = 3$; Mittelwert $\pm \sigma$.

Elektronenmikroskopischer Nachweis einer Zellstabilisierung durch D_2O

Der verminderte ATP-Abfall in Organen, bei denen das Gewebewasser partiell durch D_2O substituiert war, legte die Frage nahe: Läßt sich ein Schutzeffekt des D_2O auch durch morphologische Befunde nachweisen?

Dazu wurden Gewebeproben nach verschiedenen normothermen Ischämie-Zeiten (vgl. Tab. 1) entnommen und elektronenmikroskopisch untersucht.

Leber

Abbildung 4 vergleicht die Befunde bei D_2O -haltiger Leber mit der Kontrolle nach 90 min Ischämie. Bei den Kontrollen waren die Mitochondrien geschwollen, das endoplasmatische Retikulum (ER) zeigte sich etwas erweitert und wies Zeichen einer beginnenden Fragmentierung auf. Die Zellkerne stellten sich leicht pyknotisch dar. Nach der Perfusion der Leber mit D_2O -haltiger Ringer-Lösung war ein Anteil von 0,49 des H_2O ersetzt. Die ischämischen Veränderungen sind wesentlich geringer ausgeprägt. Etwa 80% der Mitochondrien sind noch unverändert und das ER noch intakt.

Auch noch nach 180 min Ischämie waren deutliche Schutzwirkungen des D_2O feststellbar.

Herz

Auch bei Kaninchen-Herzen läßt sich elektronenmikroskopisch ein verzögerter Struktur-Zerfall durch Ischämie nach Durchströmen mit D_2O -haltigen Lösungen feststellen. Nach 40 min Ischämie (Abb. 5) waren bei den Kontrollherzen alle Mitochondrien stark geschwollen und ihre Cristae z.T. verschwunden. Das sarkoplasmatische Retikulum (SR) zeigte eine starke Schwellung.



Abb. 4. Rattenleber 90 Minuten nach Perfusion mit Ringer-Lösung.

a) Ringer-Lösung in H_2O

Auflockerung des Cytoplasmas (X), starke Schwellung einzelner Mitochondrien (M), Fragmentierung (>) und Disorganisation des rauen endoplasmatischen Retikulums (ER).

b) Ringer-Lösung in D_2O

Glykogengranula (G), Membranpakete des rauen endoplasmatischen Retikulums (ER), nur gering ausgeprägte Mitochondrienschwellung (M).
Vergrößerung etwa 1:12000.

Die Zellkerne waren stark pyknotisch. Dagegen waren in den Herzen mit D_2O noch die Hälfte der Mitochondrien unverändert, die restlichen nur leicht geschwollen. Die Durchmesser des SR hatten sich nur leicht vergrößert, die Kerne zeigten eine geringere Pyknose.

Durch mehrmaliges Injizieren konnte der D_2O -Anteil des Herzens in der 2. Versuchsserie (vgl. Tab. 1) auf 0,63 erhöht werden. In diesem Herzen waren nach 40 min Ischämie noch etwa 3/4 der Mitochondrien unverändert und der Rest geschwollen. Das SR erschien praktisch unverändert. Sogar nach 90 min Ischämie wiesen noch etwa 10% der Mitochondrien keine deutlichen Veränderungen auf. Erst nach 120 min Ischämie zeigten alle Mitochondrien eine geringgradige Schwellung unter Erhaltung ihrer Cristae. Die Lysosomen an den Polen der pyknotischen Zellkerne zeigten keine Veränderungen. Bei den entsprechend behandelten Kontrollen der 2. Serie waren dagegen nach 120 min Ischämie etwa 10% der Mitochondrien geplatzt und Lysosomen nicht mehr nachweisbar.

Zwei Stunden nach Injektion von "Cardioplegin" in H_2O (Abb. 6) waren im Herzen die Mitochondrien und das SR geschwollen, das longitudinale Tubulussystem stärker als das transversale. Die Zellkerne zeigten eine randständige Verdichtung des Chromatins. Ein Anteil von 0,10 D_2O bewirkte einen stärkeren Schutzeffekt als Cardioplegin allein. Besonders die Zahl der geschwollenen Mitochondrien und das Ausmaß ihrer Schwellung sowie die Schwellung des Tubulussystems waren geringer als in H_2O -Cardioplegin.

Nach 3-stündiger Ischämie hatten diese Veränderungen weiter zugenommen, jedoch war auch nach dieser Zeit der Strukturzerfall in den D_2O -haltigen Herzproben geringer.

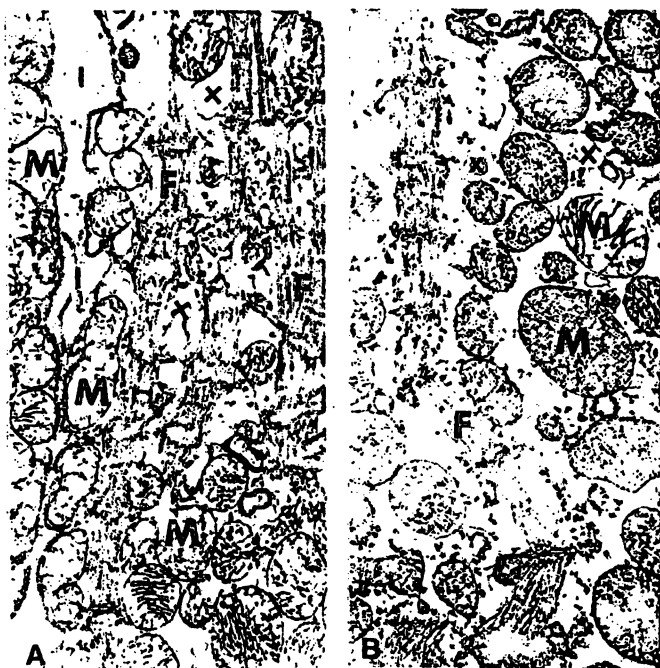


Abb. 5. Linker Papillarmuskel eines Kaninchenherzens 40 Minuten nach Injektion von Ringer-Lösung.

- a) Ringer-Lösung in H_2O
Extreme Schwellung einzelner Mitochondrien (M). Erweiterung des sarkoplasmatischen Retikulums (X = longitudinales Tubulus-System). I = Interstitieller Raum, F = Myofibrillen
- b) Ringer-Lösung in D_2O
Nur ein einzelnes Mitochondrium geschwollen (M_1), sonst gut erhaltene Mitochondrien (M). Geringere Schwellung der sarkoplasmatischen Hohlräume (X). Vergrößerung etwa 1:12000.

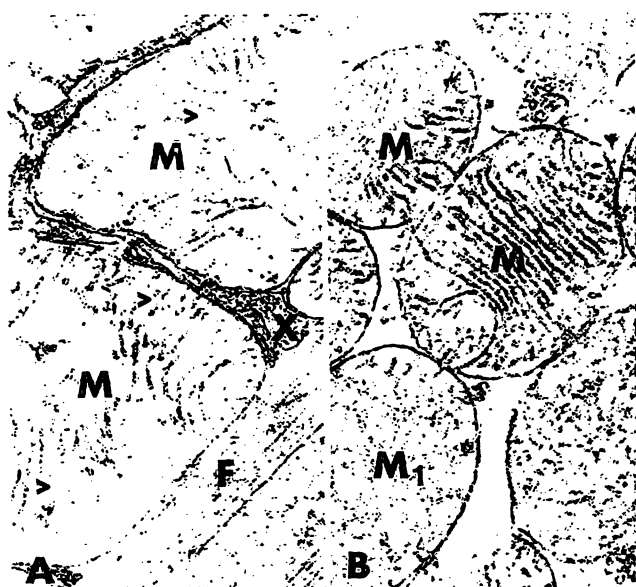


Abb. 6. Linker Papillarmuskel eines Kaninchenherzens 120 Minuten nach Injektion von „Cardioplegin“.

- a) „Cardioplegin“ in H_2O
Stark geschwollene Mitochondrien (M) mit vesikulärer Fragmentierung der Cristae (>) und Matrixverlust. Erweiterung des transversalen Tubulus-Systems (X). F = Myofibrille.
- b) „Cardioplegin“ in D_2O
Geringere Schwellung der Mitochondrien (M) und geringere Fragmentierung der Cristae (M_1). Vergrößerung etwa 1:30000.

Diskussion

Der teilweise Austausch von H_2O durch D_2O führt in Leber und Herz zu geringeren Veränderungen durch Ischämie. Dieses Ergebnis entspricht früheren Befunden zur Stabilisierung von Zellen (12–14) und Enzymen (15) nach Zusatz von D_2O .

Mechanismus der Stabilisierung durch D_2O

Die Stabilisierung biologischer Systeme durch D_2O läßt sich damit erklären, daß in D_2O -haltigem Wasser dissoziabler Wasserstoff von Makromolekülen teilweise gegen Deuterium ausgetauscht wird. Dies führt zum Ersatz von H-Brücken durch D-Brücken, deren Bindungen fester sind. Wegen der Vielzahl dieser Brücken in einem Makromolekül kommt es zu einer größeren Starrheit und Festigkeit der Struktur bei Proteinen, Enzymen, DNA und RNA. So wird z.B. die Tertiär-Struktur von Proteinen stabiler und weniger anfällig gegen denaturierende Einflüsse. Durch Wirkung auf Membran-ständige Proteine kann es zu einer geringeren Schwellung von Zellen und Zellorganellen kommen. Dies läßt sich auch aus der größeren Resistenz D_2O -haltiger Erythrocyten gegen osmotische Einflüsse ableiten (12).

Daneben spielt wahrscheinlich auch der verlangsamte Ablauf biochemischer Reaktionen in D_2O eine Rolle. So ist z.B. in der D_2O -haltigen Leber der anaerobe ATP-Abbau verzögert.

Außerdem ist die Dissoziation von D_2O wesentlich geringer als von H_2O . So beträgt das Ionenprodukt von D_2O $1,9 \cdot 10^{-15}$ im Vergleich zu $1,0 \cdot 10^{-14}$ für H_2O (17). Dementsprechend nimmt in D_2O auch die Dissoziation d. h. die Stärke aller Säuren ab. Diese physikalisch-chemischen Effekte und der verminderte Stoffwechsel in D_2O lassen eine reduzierte (anaerobe) Säuerung in der Zelle in Gegenwart von D_2O erwarten.

Schlußfolgerungen

Da der Mechanismus der Schutzwirkung des D_2O unabhängig vom Effekt der Magnesium-Ionen ist, bietet sich der Zusatz von D_2O zu klinisch erprobten Systemen zur Organ-Konservierung für Transplantationen oder für Operationen an.

Wegen der Vergrößerung des Isotopie-Effektes mit fallender Temperatur (17) dürfte der durch D_2O bedingte Schutzeffekt bei Hypothermie des Organs noch größer werden.

Aus der Korrelation gemäß Abbildung 1 läßt sich abschätzen, daß man für einen D_2O -Anteil im Organ von etwa 0,20 etwa 0,8 l/kg Organ infundieren muß. Überträgt man diese Zahlen-Verhältnisse von Abbildung 1 auf den Menschen, so benötigt man zur Stabilisierung eines 300 g schweren Herzmuskels etwa 250 ml reines D_2O .

Daß sich mit D_2O -Anteilen von nur 0,10–0,20 Stabilisierungs-Effekte erreichen lassen, ergibt sich aus den Experimenten mit den Tieren Nr. 2, 3, 6, 8 (Tab. 1) und aus der Stabilisierung des ATP-Spiegels der Leber gemäß Abbildung 3. Damit stimmt überein, daß in Versuchen an isolierten Zellen oder Enzymen (12, 13, 15) bereits mit D_2O -Anteilen von 0,20–0,30 eine nahezu optimale Stabilisierung erreicht wurde. Derartige D_2O -Konzentrationen in einem Organ haben keine nachteiligen Nebenwirkungen für den Organismus, weil – nach Wiederauf-

nahme der Blutzirkulation – das D_2O stark verdünnt und außerdem schnell eliminiert wird (17). Darüberhinaus ist bekannt, daß Fische (18) und Säugetiere (17), deren Körperwasser zu einem Viertel durch D_2O ersetzt war, monatelang am Leben blieben.

Danksagung

Für experimentelle Mitarbeit haben wir Frau Scholl, Frä. Krüger, Frau Brüggeler und Herrn Grunow zu danken.

Literatur

1. Hölscher, B. (1965), Thoraxchirurgie, 13, 95–102.
2. Hölscher, B. (1966), Arch. Surg. 93, 951–957.
3. Webb, W. R., Dodds, R. P., Unai, M. O., Karow, A. M. & Cook, A. M. (1966), Ann. Surg. 164, 343–351.
4. Kirsch, U. (1971), Arzneim.-Forsch. (Drug Res.) 20, 1071–1074.
5. Hübner, G. (1971), Electron Microscopic Investigation of Cardioplegia. In: Methods. Achiev. Exp. Pathol. 5, 518–539 (1971), (Bajusz, E. & Jasmin, G. eds.) Karger, Basel.
6. Knoll, D., Braun, U., Gethmann, J. W., Lohr, B., Paschen, K., Spiekermann, P. G. & Bretschneider, H. J. (1973). In: Kalium-Magnesium-Aspartat, Colloquium 1971, (Horatz, K. & Rittmeyer, P. eds.) Medicus Berlin S. 119–129.
7. Kirsch, U., Rodewald, G. & G. Kalmar, P. (1972), J. Thorac. Cardiovasc. Surg. 63, 121–130.
8. Kalmar, P., Kirsch, U. & Rodewald, G. (1973), In: Kalium-Magnesium-Aspartat, Colloquium 1971, (Horatz, K. & Rittmeyer, P. eds.) Medicus Berlin S. 113–118.
9. Nasser, M., Bücherl, E. S. & Herbst, R. (1973), Praktische Erfahrungen mit Procain-Magnesium-Aspartat in der offenen Herzchirurgie. In: Kalium-Magnesium-Aspartat, Colloquium 1971, (Horatz, K. & Rittmeyer, P. eds.) Medicus Berlin S. 131–142.
10. Hölscher, B. (1962), Langenbecks Arch. Chir. 300, 634–664.
11. Hölscher, B., Donecker, R. & Gauss, G. (1977), Arzneim.-Forsch. (Drug Res.) 27, 77–82.
12. Wenzel, M. (1976), diese Zeitschrift 14, 185–188.
13. Wenzel, M. (1977), Naturwissenschaften 64, 441.
14. Wenzel, M. & Stöhr, W. (1970), Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. 351, 737–740.
15. Biesewig, G. (1974), Zur Wirkung von D_2O auf biochemische Parameter von Normal- und Tumorzellen. Dissertation Fachbereich Pharmazie, FU Berlin.
16. Jawozek, D., Gruber, W. & Bergmeyer, H. U. (1974), in: Enzymatische Analyse 3. Aufl., (Bergmeyer, H. U. ed), Verlag Chemie, Weinheim (1974), Band 2 S. 2020.
17. Thomson, J. F. (1963), Biological Effects of Deuterium, Pergamon Press, Oxford–London–New York–Paris, 1. Aufl. S. 133.
18. Lehr, E., Wenzel, M. & Werner, G. (1970), Naturwissenschaften 57, 521–524.

Prof. Dr. M. Wenzel
Institut für Pharmazie
der FU Berlin
Königin-Luise-Str. 2–4
D-1000 Berlin 33